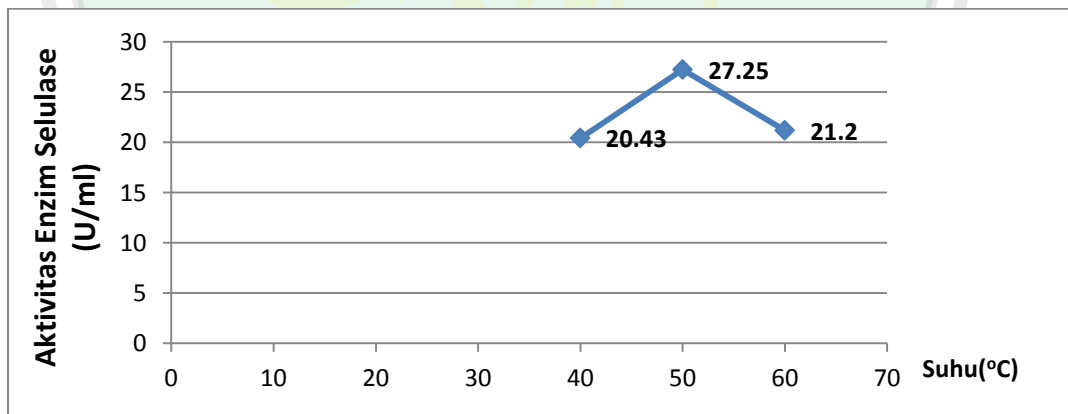


## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Selulase

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, data pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang dapat dilihat pada gambar 4.1 yang menunjukkan bahwa suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang dengan nilai aktivitas enzim selulase tertinggi pada perlakuan suhu 50° C dengan nilai aktivitas enzim sebesar 27.25 U/ml.



**Gambar 4.1** Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

Kurva diatas menunjukkan bahwa pada suhu 40°C aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang

ditumbuhkan pada media kulit pisang adalah sebesar 20.43 U/ml sedangkan pada suhu 50°C aktivitas enzim mengalami peningkatan sebesar 27.25 U/ml, namun pada suhu 60° C aktivitas enzim mengalami penurunan yang signifikan yaitu sebesar 21.2 U/ml. Hal ini menunjukkan bahwa suhu berperan sangat penting dalam reaksi enzimatik, karena enzim juga merupakan suatu protein yang sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan suhu lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim ikut mengalami perubahan.

Enzim mempunyai suhu tertentu yang menyebabkan aktivitasnya mencapai keadaan optimum (Budiman, 2010). Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi (Meryandini, 2009). Selain meningkatkan energi kinetik, bertambahnya suhu juga akan meningkatkan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan substrat, sehingga enzim menjadi aktif (Yazid, 2006). Namun menurut Iswari, (2006) bertambahnya suhu yang melebihi batas optimum dapat menyebabkan enzim terdenaturasi dan mematikan aktivitas katalisnya. Meryandini, (2009) juga menambahkan jika suhu melebihi batas optimum akan menyebabkan substrat berubah konformasinya, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim. Hal tersebut akan mengakibatkan aktivitas enzim turun karena tidak terbentuk kompleks enzim substrat, sehingga konsentrasi produk rendah.

Enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis mikroorganisme. Sebagian besar enzim memiliki aktivitas optimum pada suhu 20–50°C yang masuk dalam golongan mesozim (Volk dan wheeler, 1984). Sedangkan menurut meryandini, (2009) enzim yang memiliki aktivitas optimum diatas suhu 50°C sampai dengan 80°C masuk dalam golongan termozim (tahan panas) dan enzim yang memiliki aktivitas optimum di atas 80°C disebut hipertermozim. Oleh karena itu pada penelitian ini enzim selulase yang dihasilkan oleh campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang masuk dalam golongan mesozim atau disebut juga enzim yang stabil pada suhu sedang karena dapat bekerja optimum pada suhu 50°C.

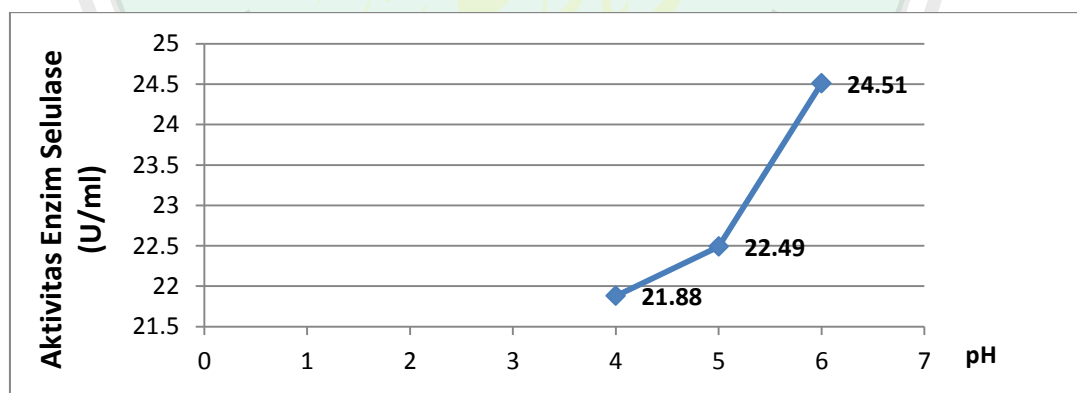
Aplikasi enzim pada beberapa industri menghendaki enzim-enzim yang dalam beraktivitas tahan terhadap panas (termostabil). Hal ini berkaitan dengan keuntungan yang akan diperoleh bila proses produksi dilakukan pada suhu tinggi dapat menurunkan resiko kontaminasi, meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghemat waktu, tenaga dan biaya, serta menurunkan viskositas larutan fermentasi sehingga memudahkan proses produksi (Soeka *et al*, 2011).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa aktivitas optimum selulase berkisar antara suhu 35-50°C. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Masfufatun (2012) menunjukkan bahwa ekstrak kasar enzim selulase yang diisolasi dari hetopankreas bekicot (*Achatina fulica*) dengan diberi perlakuan suhu 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C menunjukkan aktifitas tertinggi pada suhu 50°C dengan aktifitas sebesar 0.053 U/ml. Rumiris (2010) melaporkan bahwa enzim selulase yang diisolasi

dari sungai siak dengan perlakuan suhu 25°C, 35°C, dan 50°C menunjukkan aktifitas tertinggi pada suhu 50°C dengan aktifitas sebesar  $3.435 \times 10^{-1}$  U/ml. Alfiah, (2012) juga melaporkan bahwa enzim selulase yang diproduksi dari tongkol jagung memiliki aktifitas tertinggi pada suhu 35 °C dengan aktifitas sebesar 0,595 U/ml.

#### 4.2 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Selulase

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, data pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang dapat dilihat pada gambar 4.2 yang menunjukkan bahwa pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang dengan nilai aktivitas enzim selulase tertinggi pada perlakuan pH 6 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 24.51 U/ml.



**Gambar 4.2** Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

Kurva diatas menunjukkan bahwa aktivitas selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang terus meningkat seiring dengan bertambahnya pH yang dapat dilihat dari nilai absorbansinya. Pada pH 4 nilai aktifitas enzim selulase sebesar 21.88 U/ml dan terus meningkat seiring bertambahnya pH sampai pada pH 6 dengan nilai aktivitas enzim selulase sebesar 24.51 U/ml.

Aktivitas tertinggi suatu enzim akan terjadi dilingkungan dengan nilai pH tertentu, sehingga nilai pH setiap enzim sangat spesifik. Nilai pH tertentu yang memungkinkan enzim dapat bekerja secara maksimum disebut dengan pH optimum. (Sadikin, 2002).

Masing-masing enzim memiliki pH optimum yang berbeda. Enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah (asam) atau pH yang terlalu tinggi (basa). Pada pH yang terlalu asam atau basa enzim akan terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim akan terganggu (Safaria, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa reaksi enzimatik sangat dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH). Terjadinya perubahan nilai pH sangat mempengaruhi kerja enzim karena perubahan pH menyebabkan terjadinya perubahan pada daerah katalitik dan konformasi dari enzim, dimana sifat ionik dari gugus karboksil dan gugus amino enzim tersebut sangat mudah dipengaruhi oleh pH (Pelczar dan Chan, 1986). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pH merupakan salah satu faktor yang memiliki potensi untuk mempengaruhi aktivitas enzim, serta sangat erat kaitannya dengan fungsi aktif enzim, kelarutan substrat, dan ikatan enzim-substrat. (Pelczar dan Chan, 1986). Hal ini pula yang menyebabkan terjadinya

perubahan kerja enzim selulase yang dihasilkan oleh campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

#### 4.3 Pengaruh Interaksi Suhu dan pH terhadap Aktivitas Selulase

Untuk mengetahui adanya pengaruh interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan ANOVA yang sebagaimana disajikan pada tabel 4.1 sebagai berikut:

**Tabel 4.1** Ringkasan hasil ANOVA pengaruh suhu, pH dan interaksi keduanya terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

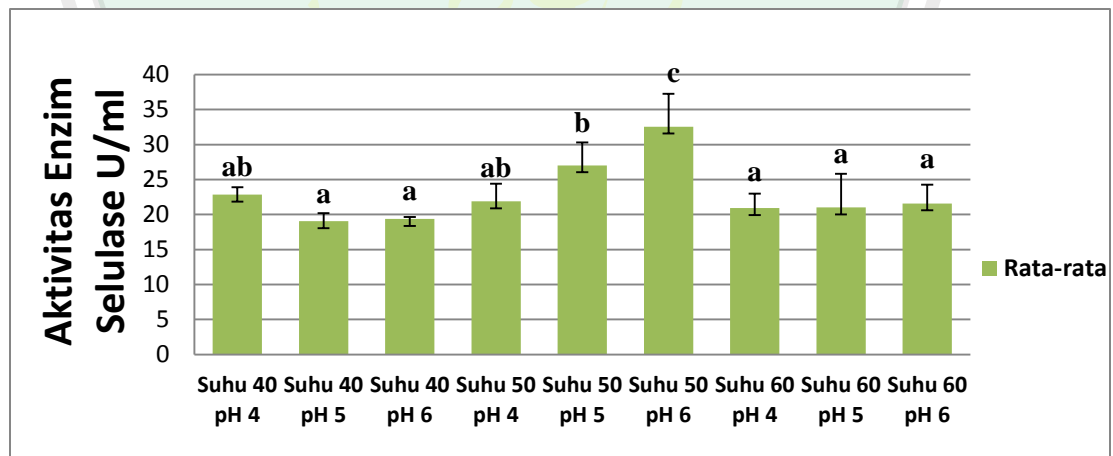
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F <sub>hit</sub>	F <sub>tabel</sub> 5%
Perlakuan	8	442.6881	55.33601	6.540301	2.5101
Suhu	2	244.7232	122.3616	14.46222	3.5545
PH	2	135.2747	67.63735	7.994227	3.5545
Suhu*PH	4	162.6902	40.67255	4.80719	2.9277
Galat	18	152.2939	8.460774		
Total	26	594.982	22.88392		

Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang nyata antara suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang, yang diketahui dari nilai  $F_{hitung} > F_{tabel}$  pada variabel yang diamati. Untuk mengetahui perlakuan yang terbaik dari masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjut dengan DMRT yang hasilnya disajikan pada tabel 4.2 dan gambar 4.3:

**Tabel 4.2** Ringkasan uji DMRT Pengaruh interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

No	Suhu	pH	Aktivitas Enzim (U/ml)	Notasi
1	40	4	$22.84 \pm 1.060$	ab
2		5	$19.07 \pm 1.150$	a
3		6	$19.32 \pm 0.245$	a
4	50	4	$21.89 \pm 2.520$	ab
5		5	$27.03 \pm 3.279$	b
6		6	$32.56 \pm 4.690$	c
7	60	4	$20.92 \pm 2.069$	a
8		5	$21.01 \pm 4.794$	a
9		6	$21.59 \pm 2.693$	a

Hasil uji Duncan pada tabel 4.1 dan gambar 4.3 menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang ditunjukkan pada perlakuan interaksi suhu 50°C dan pH 6 dengan aktivitas enzim sebesar 32.56 U/ml.



**Gambar 4.3** Pengaruh interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

Pada tabel 4.2 dan gambar 4.3 hasil aktivitas enzim selulase yang terendah diperoleh pada perlakuan suhu 40°C pH 5 yang hasilnya tidak berbeda nyata dengan perlakuan suhu 40°C pH 6, suhu 40°C pH 4, suhu 50°C pH 4, suhu 60°C pH 4, suhu 60°C pH 5 dan suhu 60°C pH 6, dengan rentang nilai aktivitas enzim selulasenya sebesar 19.07 U/ml – 22.84 U/ml. Sedangkan nilai aktivitas enzim selulase yang tertinggi diperoleh pada perlakuan suhu 50°C pH 6 dengan nilai aktivitas enzim selulasenya sebesar 32.56 U/ml.

Tingginya aktivitas enzim selulase dikarenakan seiring bertambahnya suhu menyebabkan terus meningkatnya aktivitas enzim, sampai seluruh tapak enzim berikatan dengan substrat dan membentuk kompleks enzim substrat, hal ini terjadi hingga sampai batas suhu optimum (Girindra, 1993). yaitu seperti pada perlakuan suhu 50°C pH 6 dengan nilai aktivitas enzimnya sebesar 32.56 U/ml. Selain suhu, pH juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim karena enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah (asam) atau pH yang terlalu tinggi (basa). Pada pH yang terlalu asam atau basa enzim akan terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim akan terganggu (Safaria, 2013). Masing-masing enzim juga memiliki pH optimum yang berbeda. pH 6 ini sangat mendukung tingginya aktivitas enzim karena salah satu komponen enzim selulase yaitu CMCase (Endo- $\beta$ -1,4-glukanase) cenderung optimum pada pH asam yaitu pada rentang pH 4-6,5 (Meryandini *et al*, 2009). Hal ini menyebabkan pada suhu dan pH yang sesuai ini tumbukan antara enzim dan substrat terjadi sangat



efektif sehingga pembentukan kompleks enzim substrat semakin mudah dan produk yang terbentuk meningkat, sehingga menghasilkan nilai aktivitas enzim yang tinggi.

Aktivitas enzim selulase yang terendah terjadi pada perlakuan suhu 40°C pH 5 dengan nilai aktivitas enzimnya sebesar 19.07 U/ml. Hal ini dikarenakan aktivitas enzim yang terjadi dibawah batas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim kecil karena kurangnya energi termodinamik, sehingga memungkinkan tumbukan antara molekul enzim dan substrat kecil dan menyebabkan aktivitas enzimnya juga kecil (Soendoro,1997). Akan tetapi reaksi enzimatik diatas batas suhu optimum akan menyebabkan nilai aktivitas enzimnya rendah, seperti pada perlakuan suhu 60°C pH 6 dengan nilai aktivitasnya sebesar 20.92 U/ml, hal ini dikarenakan reaksi enzimatik diatas suhu optimum akan menyebabkan meningkatnya energi termodinamik, sehingga tumbukan antara enzim dan substrat meningkat, akan tetapi tidak mencapai kondisi optimum karena dengan meningkatnya suhu struktur bangun tiga dimensi enzim akan berubah secara bertahap dan akan merusak struktur protein (denaturasi). Denaturasi ini akan menyebabkan menurunnya fungsi katalik enzim karena struktur enzim tidak sesuai lagi dengan molekul substrat. Namun aktivitas enzim yang terjadi dibawah batas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim kecil karena kurangnya energi termodinamik, sehingga memungkinkan tumbukan antara molekul enzim dan substrat kecil (Soendoro,1997).

Penelitian terdahulu tentang aktivitas enzim selulase oleh *Penicillium* sp. yang diisolasi dari tanah Wonorejo Surabaya menghasilkan aktivitas enzim sebesar 17,66 U/ml, dan *Aspergillus niger* menghasilkan aktivitas enzim selulase sebesar 2,361

(Astuti, 2011). Penelitian Kusnadi (2010) juga menyebutkan bahwa aktivitas enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum* yang diisolasi dari serbuk gergaji menghasilkan aktivitas enzim selulase sebesar 5,73 U/ml.

Pada penelitian ini aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. menghasilkan aktivitas enzim selulase yang lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa penelitian yang telah disebutkan yang hanya menggunakan kapang tunggal. Menurut Anwar (2010), hal ini dikarenakan campuran enzim dari beberapa kapang mampu memperbaiki komposisi endoglukanase, eksoglukanase, dan glukosidase menjadi lebih seimbang untuk menghidrolisis selulosa, seperti halnya *Trichoderma reesei* yang hanya menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase tetapi glukosidasenya rendah (Martin, 2008). dan sebaliknya contoh lain yaitu *Aspergillus niger* yang menghasilkan glukosidase yang kuat akan tetapi endoglukanase dan eksoglukanase rendah (Anwar, 2010). Hal tersebut membuktikan bahwa kapang memiliki spesifitas bagian tertentu dari substrat selulosa, dan untuk mendapatkan hasil yang optimal kapang-kapang tersebut bekerja bersama-sama dan secara bertahap menguraikan selulosa menjadi unit glukosa. Hal ini sebagaimana Alloh Subhanallahu Wa ta'ala berfirman dalam Al-Quran surat Al-Mulk [67]: 3-4 yaitu:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۚ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۚ فَإِذْ جَئَ الْبَصَرُ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ۝ ثُمَّ أَرْجِعَ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنقَلِبْ إِلَيْكَ الْبَصَرُ خَاسِئًا وَهُوَ حَسِيرٌ ۝

“Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka

*lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang? kemudian pandanglah sekali lagi niscaya penglihatanmu akan kembali kepadamu dengan tidak menemukan sesuatu cacat dan penglihatanmu itupun dalam Keadaan payah.”(QS. Al-Mulk [67]: 3-4).*

Ayat diatas menjelaskan tentang keserasian alam semesta. Keserasian itulah yang menciptakan ekosistem atau hubungan timbal-balik sehingga alam raya dapat berjalan sesuai dengan tujuan penciptaanya. Keserasian tersebut dapat dilihat pada hubungan timbal-balik antara jenis kapang satu dengan jenis kapang lain yang saling bekerja bersama-sama sehingga diperoleh suatu kinerja yang simultan dan optimal. Sumarsih (2003) juga menyatakan bahwa jika terdapat dua atau lebih jasad yang berbeda ditumbuhkan bersama-sama dalam suatu medium, maka aktivitas metabolismenya secara kualitatif maupun kuantitatif akan berbeda jika dibandingkan dengan jumlah aktivitas masing-masing jasad yang ditumbuhkan dalam medium yang sama tetapi terpisah. Fenomena ini merupakan hasil interaksi metabolisme atau interaksi dalam penggunaan nutrisi yang dikenal sebagai sinergitik.

Penggunaan substrat yang tepat juga merupakan salah satu faktor tingginya nilai aktivitas enzim. Menurut Suprihatin (2010), dalam industri fermentasi dibutuhkan substrat yang murah, mudah didapat serta penggunaannya efisien dan juga tersedia sepanjang tahun. Selain itu yang terpenting substrat yang digunakan harus dapat memenuhi kebutuhan senyawa karbon bagi kelangsungan hidup mikroorganisme. Salah satu substrat yang potensi digunakan adalah kulit pisang.

Penelitian yang dilakukan Rizkiyah (2014), menyebutkan bahwa aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis*

sp. yang ditumbuhkan pada media bagas tebu dengan perlakuan yang sama menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada interaksi suhu 50°C dan pH 6 dengan nilai aktivitas enzim yang lebih rendah dari yang menggunakan kulit pisang yang digunakan pada penelitian ini, yaitu sebesar 31.57 U/ml dan dengan kulit pisang sebesar 32.56 U/ml. Hal ini dikarenakan selain memiliki kandungan selulosa seperti halnya bagas tebu, kulit pisang juga mengandung karbohidrat yang cukup tinggi. Menurut Yusraini (2007), karbohidrat dan selulosa tersebut akan diubah menjadi glukosa yang nantinya berperan sebagai sumber karbon sekaligus senyawa penginduksi bagi sintesis enzim selulase.

Nilai aktivitas enzim selulase dari tiap isolat kapang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa kapang merupakan mikroorganisme yang sangat bervariasi dalam potensinya memanfaatkan nutrisi dari substratnya maupun kemampuan metabolismenya. Hal ini sesuai dengan firman Allah Subhanallahu Wa ta'ala dalam Al-Quran surat Al-Furqan [25]: 2 yaitu:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ  
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

*“Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”(QS. Al-Furqan [25]: 2).*

Ayat diatas menjelaskan khususnya pada lafad, *فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا* bahwasanya Allah Subhanallahu Wa ta'ala menciptakan segala sesuatu dengan menetapkan

ukuran dan kadarnya masing-masing dengan serapi-rapinya tanpa ada cela atau kesalahan didalamnya, tidak perlu ada penambahan atau pengurangan walaupun dengan alasan untuk suatu hikmah atau maslahat. Seperti halnya enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh setiap kapang. Setiap kapang selulolitik memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim dan kemampuannya mendegradasi selulosa sesuai dengan jenis dan karakteristik kapang tersebut.

